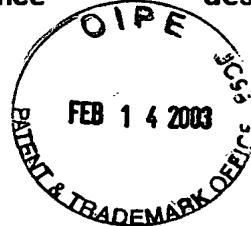




Europäisches  
Patentamt

European  
Patent Office

Office européen  
des brevets



Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten europäischen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the European patent application described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont conformes à la version initialement déposée de la demande de brevet européen spécifiée à la page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

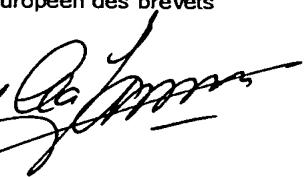
00110045.2

Der Präsident des Europäischen Patentamts;  
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets  
p.o.



  
C. Aa-Jansen

MÜNCHEN, DEN  
MUNICH,  
MUNICH, LE

05/02/03



**Blatt 2 der Bescheinigung**  
**Sheet 2 of the certificate**  
**Page 2 de l'attestation**

Anmeldung Nr.:  
Application no.: **00110045.2**  
Demande n°:

Anmeldetag:  
Date of filing: **12/05/00**  
Date de dépôt:

Anmelder:  
Applicant(s):  
Demandeur(s):  
**MERCK PATENT GmbH**  
**64293 Darmstadt**  
**GERMANY**

Bezeichnung der Erfindung:  
Title of the invention:  
Titre de l'invention:  
**Biozemente auf TCP-PHA-Basismischung mit verbesselter Kompressionsfestigkeit**

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)

Staat:  Tag:  Aktenzeichen:  
State:  Date:  File no.  
Pays:  Date:  Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation:  
International Patent classification:  
Classification internationale des brevets:  
**A61L27/12, A61L24/02, A61K6/033**

Am Anmeldetag benannte Vertragstaaten:  
Contracting states designated at date of filing: **AT/BE/CH/CY/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LI/LU/MC/NL/PT/SE**  
Etats contractants désignés lors du dépôt:

Bemerkungen:  
Remarks:  
Remarques:

**BEZEICHNUNG SIEHE Z. 1 DER BESCHREIBUNG**

RCV. VON: EPA MUENCHEN 06  
12. MNL. 2VVV 17.2  
5/2000

:12- 5- 0 ; 14:23 :  
VVVV VVV VVV VVV

496151727191→ +49 89 23994465:# 8  
VVVV VVV VVV VVV

**Merck Patent Gesellschaft  
mit beschränkter Haftung**

**64271 Darmstadt**

**Biozemente mit verbesserter  
Kompressionsfestigkeit**

- 1 -

## Biozemente mit verbesselter Kompressionsfestigkeit

Gegenstand der älteren deutschen Patentanmeldung P 198 13 614.5 sind biologisch abbaubare Calciumphosphat-Zemente, insbesondere

5 Mischungen aus calciumphosphathaltigen Pulvern unterschiedlicher stöchiometrischer Zusammensetzung mit verbesserten Eigenschaften. Diese Mischungen enthalten alle Tricalciumphosphat (TCP) und eine oder mehrere andere phosphathaltige anorganische Verbindungen in unterschiedlicher Zusammensetzung, wobei der TCP-Anteil in einem wohl

10 definierten Partikelgrößenbereich vorliegt. Erfindungswesentlich war dabei, dass ein bestimmter Anteil von Feinpartikeln (ca. 1 - 40  $\mu\text{m}$ ) und Feinstpartikeln (0.1 - 1  $\mu\text{m}$ ) neben einen bestimmten Anteil von Grobpartikeln (40 - 300  $\mu\text{m}$ ) vorliegen muss.

15 Die Lehre der vorliegenden Erfindung geht von der Aufgabe aus, biologisch abbaubare Calciumphosphat-Zemente der geschilderten Art weiterhin zu verbessern. Hierbei stehen insbesondere die folgenden Erwägungen im Vordergrund:

Bis Ende 1997 waren nur Prototypen des Biozement D

20 (Zusammensetzung siehe DE 19813614.5) bekannt. Charakteristisch für diese Prototypen waren ihre ausreichenden Eigenschaften in Bezug auf Mischzeit, Kohäsionszeit, Dough-time, initiale und finale Aushärtezeit nach ASTM C266, aber die Kompressionsfestigkeit erreichte niemals Werte größer 50 MPa. Sie lag damit lediglich im Bereich des trabekulären

25 humanen Knochens (Driessens et al., Bioceramics 10 (1997) 279-282). Als Kristallisationskeim wurde handelsüblicher TCP verwendet (siehe DE 19813614.5)

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, für die Biozemente

30 Kompressionsfestigkeiten > 50 MPa zu erreichen, die bzgl. Festigkeit sogar im Bereich des kortikalen Knochens liegen, ohne dass diese Biozemente negative Veränderungen in Bezug auf Verarbeitungszeiten und Kohäsion zeigen.

Diese Aufgabe wird nun erfindungsgemäß durch Verwendung eines

35 speziell hergestellten, präzipitierten Hydroxylapatit (PHA) gelöst, wobei dieser als Kristallisationskeim bzw. Nukleationsmittel zur Ausbildung des

- 2 -

bei der Aushärtungsreaktion entstehenden karbonisierten Apatits aus Biozement D dient. Überraschenderweise können somit nach der Aushärtung Kompressionsfestigkeiten von 70-80 MPa erreicht werden (siehe Tab. 1 und Fig. 1)

5

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit eine Mischung von Pulvern geeignet zur Herstellung von resorbierbaren Calciumphosphatzementen, enthaltend Tricalciumphosphat (TCP), wobei 30-70 % der TCP-Teilchen eine Partikelgröße von 0.1 - 7  $\mu\text{m}$  und 10 - 60 % eine Partikelgröße von 40 - 100  $\mu\text{m}$  aufweisen, präzipitierter Hydroxylapatit (PHA) und mindestens einer weiteren anderen phosphathaltigen anorganischen Verbindung, wobei der PHA ein Kation-defizienter Hydroxylapatit mit der Zusammensetzung



15

mit Werten für x zwischen 0 und 2.

20

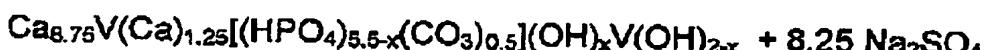
Es wurde herausgefunden, dass es sich bei dem während der Abbinde- und Aushärtungsphase bildenden Präzipitat aus Biozement D, um einen karbonisierten, Kation-defizienten Hydroxylapatit der o.g. Summenformel handelt. Dabei bedeuten V(Ca) und V(OH) Fehlstellen von Ca und OH im Kristallgitter. Die Werte für x hängen wiederum vom strukturell bedingten Wassergehalt des Apatits ab. Es stellte sich weiterhin heraus, dass die Struktur und Zusammensetzung des bisher als Nukleationskeim zur Herstellung des Biozements D-Prototyps, verwendeten PHA, das sogenannte TCP, erheblich von der des oben beschriebenen Kation-defizienten Hydroxylapatits abweicht. Das im Stand der Technik (siehe DE 198 13614) verwendete TCP enthält als Hauptphase Apatit, welcher aber nur sehr wenig Carbonat ( $\text{CO}_2$ -Gehalt < 0.2 %) und als Nebenphasen Monetit enthält. Hieraus folgte der Schluss einen starker karbonisierten, präzipitierten Kation-defizienten Hydroxylapatit herzustellen, welcher eine ähnliche Struktur besitzt wie sie sich während der Abbindung und Aushärtung des Biozementes D einstellt. Ein solches Material sollte besser als Nukleationsmittel für die Reaktion des Biozementes D geeignet sein. Die Herstellung des PHA erfolgt einfachstenfalls durch Konversion dreier Salze nach folgender Reaktion:

25

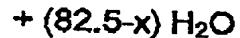
30

35

- 3 -



5



Anstelle des  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  können auch andere Calciumsalze starker Säuren wie z.B. ein Anhydrat oder Hydrat von Calciumchlorid oder Calciumnitrat verwendet werden. Deren Nachteil liegt jedoch in einer hohen Stöchiometrieabweichung, so dass man nicht sicher voraussagen kann, wieviel Calcium proportional in den drei Salzen enthalten ist.

Um einen Kation-defizienten Hydroxylapatit zu erhalten, muss die Lösung einen pH zwischen 7 und 9, vorzugsweise zwischen 7 und 8 haben. Dies wird am besten durch Lösen von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  oder  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  oder deren Mischung in einer wässrigen Lösung erreicht, in die dann die drei o.g. Salze entsprechend gelöst werden.

Eine weitere Voraussetzung ist die Partikelgröße des PHA. Damit dieser als Nukleationsmittel im Biozement D, H oder auch F (siehe DE 19813614.5) geeignet ist, sollte die Partikelgröße zwischen 0.5 und 10  $\mu\text{m}$ , vorzugsweise zwischen 0.5 und 5  $\mu\text{m}$  liegen. Dies wird durch das Lösen von Magnesiumchlorid und/oder Magnesiumsulfat und/oder Magnesiumnitrat und/oder eines oder mehrere ihrer Hydrate in einer wässrigen Lösung erreicht, in welcher die Reaktion zum PHA ausgeführt wird und in welcher die Magesiumsalze, vorzugsweise vor dem Einmischen der drei Salze nach o.g. Gleichung gelöst werden. Nach Formung des Präzipitats von PHA in der Lösung, soll diese längere Zeit bei Raumtemperatur aufbewahrt werden um die Inkorporation der Carbonatanionen in das PHA zu vervollständigen. Jegliche Temperaturerhöhung muss vermieden werden um ein Kristallwachstum des Präzipitats zu vermeiden. Danach wird das Präzipitat aus der wässrigen Lösung z.B. durch Filtration oder Zentrifugation entfernt, wobei das Präzipitat mit einem Überschuss einer, einen neutralen Elektrolyten enthaltenden, wässrigen Lösung gewaschen wird, um die Natrium- und Sulfat-Ionen zu entfernen. Spuren dieser Ionen im PHA in der

- 4 -

Größenordnung von < 0.1 Gew. % sind dabei akzeptabel. Als neutrale Elektrolyte werden vorzugsweise Na- oder K-Salze, in Form von Chloriden und/oder Sulfaten und/oder Nitraten und/oder eines oder mehrere ihrer Hydrate verwendet. Der Grund für die Verwendung dieser neutralen Elektrolyte in der Waschlösung liegt in der Verhinderung des Quellens und der Disproportionierung des Präzipitats. Nach der Spülung des Präzipitats wird dieses über Nacht bei 120° C getrocknet. Um eine Aggregation zu vermeiden, sollte die Trocknung nicht über 16 h liegen. Danach ist der so hergestellte PHA gebrauchsfertig zur Herstellung des endgültigen Biozementes D-Pulvers.

Der erfindungsgemäße PHA kann nicht nur zur Herstellung von Biozement D, sondern auch zur Herstellung der Zementmischungen F und H verwendet werden. Die Zusammensetzungen und Mischungsverhältnisse der Biozemente D, F und H sind aus der WO 99/49906 bekannt. Wie vorher schon erwähnt, wurde in diesen Biozementen jedoch ein PHA anderer Zusammensetzung verwendet.

In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt der Anteil des PHA 1 bis 5 Gew. % bezogen auf die Gesamtrockenmasse. Noch bevorzugter beträgt der PHA-Anteil 1.7 bis 2.7 Gew.% bezogen auf die Gesamtrockenmasse des Biozementes.

Geeignete Verbindungen, die zu TCP hinzugemischt werden können, sind generell alle anorganischen Verbindungen, die Calcium und Phosphat enthalten. Bevorzugt werden die Verbindungen, die aus der folgenden Gruppe ausgewählt werden:  
CaHPO<sub>4</sub>, carbonathaltiger Apatit und CaCO<sub>3</sub>.

Die erfindungsgemäßen Mischungen können, falls gewünscht, auch bekannte Abbindungsbeschleuniger enthalten. Bevorzugt ist hierbei Dinatriumhydrogenphosphat.

Ferner ist es wünschenswert der Mischung pharmazeutische Wirkstoffe beizumischen, welche die unterschiedlichsten Wirkungen besitzen. Beispiele solcher Wirkstoffe sind Wachstumsfaktoren wie FGF (Fibroblast

- 5 -

Growth Factor), BMP (Bone Morphogenetic Protein) oder TGF- $\beta$  (Tissue Growth Factor) oder andere Wirkstoffe wie Prostaglandine. Die Biozemente sind aufgrund ihrer Struktur in der Lage, die Wirkstoffe innerhalb von einigen Tagen nach der Implantierung in die Umgebung abzugeben.

5

Weiterhin ist es sinnvoll der erfindungsgemäßen Mischung als temporärer Schutz vor Keimbesiedlung während der Implantation Antibiotika oder Desinfektionsmittel zuzusetzen, analog zu den bekannten Mischungen nach WO 99/49906.

10

Gegenstand der Erfindung ist auch eine entsprechende Mischung in Form einer wässrigen Lösung, Paste oder Suspension sowie ihre Verwendung zur Herstellung von biologisch abbaubaren implantierbaren synthetischen Knochenmaterialien.

15

Der PHA wird nach folgendem Beispiel hergestellt.

Beispiel:

Es werden drei Salze mit folgenden Mengenangaben zusammengegeben und homogen vermischt.

20

40.67 g  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  + 60.0 g  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  + 0.96 g  $\text{CaCO}_3$

25

Diese Mischung wird in ein 600 ml Becherglas überführt. Anschließend wird 200 ml einer wässrigen Lösung bestehend aus 20 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  + 5 g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 20 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pro 1000 ml zugeführt. Die Lösung wird bei Raumtemperatur 2 h gerührt. Das Präzipitat wird mittels Filtration von der Lösung getrennt. Danach wird das Präzipitat 20 mal mit jeweils 50 ml einer 0.9%igen NaCl Lösung gewaschen. Anschließend erfolgt die Trocknung des Präzipitats über Nacht bei 120° C. Eine Aggregation wird nicht beobachtet. Das Röntgendiffraktogramm ergab die Struktur eines Mikroapatits. Das FT-IR Spektrum zeigte charakteristische Apatit- und Carbonat-Bindungen vom B-Typ.

30

Tab.1 zeigt die Kompressionsfestigkeiten (in MPa) der vorliegenden Erfindung nach 2, 4, 6, 18, 72 und 240 Stunden im Vergleich zur WO 99/49906.

35

- 6 -

Tab.1

5	Zeit [h]	Kompressionsfestigkeit	Kompressionsfestigkeit
		WO 99/49906	Erfindung
	2	16	
	4	26	
	6		29.2
10	18	45	46
	72	47	74.3
	240	48	75.5

15 In Figur 1 sind die Werte aus Tabelle 1 grafisch dargestellt.

20 Die Ergebnisse zeigen, dass die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabenstellung gelöst ist und die Kompressionsfestigkeit des erfundungsgemäßen PHA nach etwa 48 h schon deutlich höhere Werte gegenüber dem Stand der Technik zeigt.

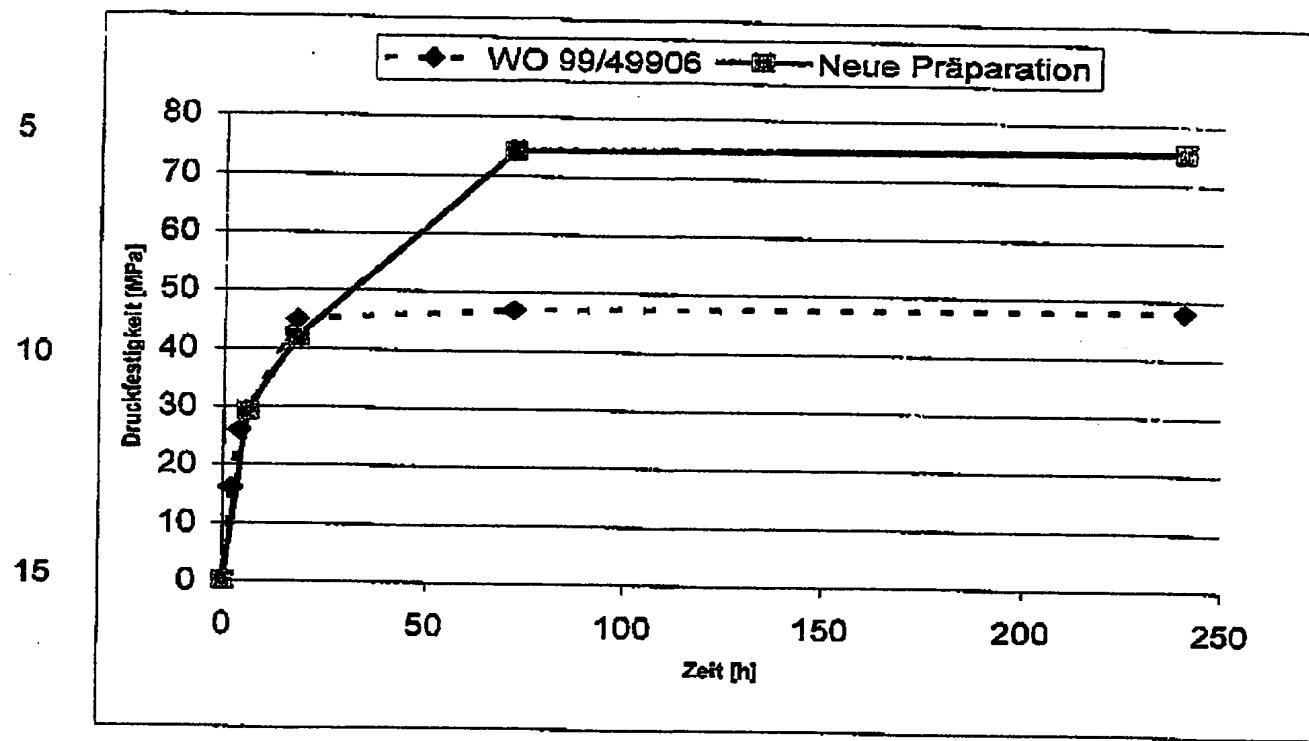
25 Die Bestimmung der Kompressionsfestigkeit erfolgte mit einer Materialprüfmaschine Lloyd Typ LR50K nach 2, 4, 6, 18, 72 und 240 Stunden Immersion in Ringer-Lösung. Das Reaktionsprodukt wird mittels Röntgendiffraktometrie bestimmt.

30

35

- 7 -

Fig.1



20

25

30

35

- 8 -

## Patentansprüche

1. Mischung von Pulvern geeignet zur Herstellung von resorbierbaren Calciumphosphat-Zementen, enthaltend Tricalciumphosphat (TCP),

5 wobei 30- 70% der TCP-Teilchen eine Partikelgröße von 0.1 bis 7 µm und 10 - 60% eine Partikelgröße von 40 - 100 µm aufweisen, präzipitierter Hydroxylapatit (PHA) und mindestens einer weiteren anderen phosphathaltigen anorganischen Verbindung, dadurch gekennzeichnet, dass der PHA ein Kation-defizienter Hydroxylapatit

10 der Formel I



2. Mischung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sie nach 15 der Aushärtung eine Kompressionsfestigkeit zwischen 70 und 80 MPa besitzt.

3. Mischung nach Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der PHA eine Partikelgröße von 0.5 bis 10 µm besitzt.

20 4. Mischung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der PHA eine Partikelgröße von 0.5 bis 5 µm besitzt.

5. Mischung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Anteil des PHA 1 bis 5 Gew.% bezogen auf die 25 Gesamtrockenmasse beträgt.

6. Mischung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Anteil des PHA 1.7 bis 2.7 Gew.% bezogen auf die Gesamtrockenmasse beträgt.

30 7. Mischung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens eine andere phosphathaltige anorganische Verbindung ausgewählt wurde aus der Gruppe:  
CaHPO<sub>4</sub>, carbonathaltiger Apatit und CaCO<sub>3</sub>.

- 9 -

8. Mischung nach einen der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich einen Abbindungsbeschleuniger enthält.
9. Mischung nach einen der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich einen pharmazeutischen Wirkstoff enthält.
10. Mischung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass sie zusätzlich ein Antibiotikum oder ein Desinfektionsmittel enthält.
- 10 11. Mischung nach einen der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass sie in Form einer wässrigen Lösung, Suspension oder Paste vorliegt.
- 15 12. Biologisch abbaubares Implantat, hergestellt aus einer ausgehärteten Mischung nach Anspruch 11.
13. Verwendung einer Mischung nach Anspruch 11 zur Herstellung von biologisch abbaubaren, implantierbaren, synthetischen Knochenmaterialien.
- 20
- 25
- 30
- 35

- 10 -

## Zusammenfassung

5 Die Erfindung beschreibt biologisch abbaubare Calciumphosphat-Zemente, insbesondere Mischungen aus calciumphosphathaltigen Pulvern unterschiedlicher stöchiometrischer Zusammensetzung, wobei der enthaltende präzipitierte Hydroxylapatit ein Kation-defizienter Hydroxylapatit der Formel 1 ist, wodurch die Mischungen verbesserte 10 Eigenschaften hinsichtlich Kompressionsfestigkeit zeigen.

15

20

25

30

35